

1870

FORMISANO M., MEDURI A., VOLPE T.

# RICERCHE SUL « CALORE ROSSO » DELLE PELLI SALATE

III. Indagini microbiologiche, chimico-fisiche ed istologiche

*Lavoro eseguito con il contributo del Dipartimento  
di Agricoltura U. S. A. (Legge Pubblica 480).*

Estratto dal « Bollettino della Stazione Sperimentale  
per l'Industria delle Pelli e delle Materie Concianti »  
Vol. XXXVIII - Ottobre 1962 N. 5

FORMISANO M., MEDURI A., VOLPE T.

# RICERCHE SUL « CALORE ROSSO » DELLE PELLI SALATE

III. Indagini microbiologiche, chimico-fisiche ed istologiche

*Lavoro eseguito con il contributo del Dipartimento  
di Agricoltura U. S. A. (Legge Pubblica 480).*

Estratto dal « Bollettino della Stazione Sperimentale  
per l'Industria delle Pelli e delle Materie Concianti »

Vol. XXXVIII - Ottobre 1962 N. 5

Sulle pelli bovine salate, dopo un tempo più o meno prolungato di conservazione, si manifestano, fra l'altro, macchie rosse che le deprezzano come materia prima nell'industria di numerosi manufatti.

L'alterazione, nota come « calore rosso », si presenta con macchie, sul lato carne e particolarmente sulle parti esposte all'aria, di color rosso più o meno intenso, isolate o confluenti, a strisce, umidicce, limose, rilevate e che interessano una ristretta zona ovvero possono estendersi a tutta la superficie della pelle.

Anche se, apparentemente sembra che riguardino soltanto la parte superficiale del lato carne, tanto da poter essere rimosse con facilità meccanicamente, non può escludersi però che esse possano portare ad una eventuale distruzione delle fibre collageniche o ad una perdita di sostanza dermica.

Per quanto concerne i lavori scientifici che trattano dell'argomento, riguardanti le cause predisponenti e concomitanti all'insorgere del danno, nonché i tentativi fatti per impedire il manifestarsi dell'alterazione o limitarne lo estendersi, ricordiamo che esiste una interessante letteratura scientifica, a cominciare dalle prime ricerche di Becker (1) del 1912 fino a quelle recentissime (1962) di uno di noi [Formisano (2,3)].

In particolare, a queste ultime (2, 3) rimandiamo il lettore per una dettagliata conoscenza dell'argomento.

Si è d'accordo, in generale, nel ritenere che l'alterazione sia di origine microbica e che gli organismi responsabili derivino dal sale (particolarmente da quello marino) adoperato per la conservazione delle pelli.

Così si è d'accordo nel ritenere che le cause predisponenti all'insorgere del danno risiedano in un insieme di fattori concomitanti quali, la reazione del mezzo ( $\text{pH} = 7,0 - 8,0$  e talora fino a  $\text{pH} = 11,0$  accentuano l'arrossamento e fanno prosperare abbondantemente i germi specifici), poi la temperatura (al disotto di  $37^\circ\text{C}$ . le macchie vanno da rosa a rosa-corallo; intorno ai  $37^\circ\text{C}$ . le macchie sono tipicamente rosse fino a rosso-mattone; al disopra

dei 40°C. le colorazioni sono cremisi-chiare); ed ancora, l'umidità relativa (che non deve mai scendere al disotto del 60%), ed infine la concentrazione del sale (anche il 30% di NaCl non impedisce la comparsa del danno).

E' da considerare causa accessoria la presenza di germi alotolleranti, mentre specifici sono gli alofili obbligati e cromogeni.

Questi sono microrganismi epiftici naturali del sale, delle salamoie, dell'acqua di mare; i primi, cioè gli alotolleranti, sopportano concentrazioni non eccessive di NaCl (fino a 10-12%), i secondi, cioè gli alofili obbligati, sono capaci di svilupparsi facilmente fino a saturazione (30-33% di NaCl).

Fino ad oggi sono stati isolati e descritti numerosi germi molti dei quali però, ad un più attento esame, non possono ritenersi come i veri agenti del « calore rosso », e ciò perchè, essendo stati talora solo superficialmente studiati, non sempre si è proceduto alle prove di reinfezione di pelli sane per stabilire se erano capaci o meno di riprodurre il danno.

Perciò noi riteniamo di non potere accettare le vedute di taluni Autori [Stather (4, 5), Bergmann (6), Hausam (7), Horowitz-Wlassowa (8), ecc.] i quali consideravano che il « calore rosso » fosse dovuto a *Micrococcus pyogenes aureus*, a *Bac. mesentericus*, a *Sarcina aurantiaca*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus tetragenus*, *Bac. subtilis*, *Bact. prodigiosum*, o ancora a *Proteus*, a *Corynebacterium*, ad *Actinomyces*, ecc.; tutti germi questi più o meno banali, in quanto, in particolare, il loro sviluppo era avvenuto su substrati inadatti.

Riteniamo invece, che gli agenti specifici siano numerosi e che quelli più attentamente ed ampiamente studiati siano: *Sarcina litoralis* di Poulsen (9), *Micrococcus morrhuae* di Klebahn (10), *Halobacterium salinarium* di Harrison e Kennedy (11), *Micrococcus roseus halophilus* di Petrowa (12), *Halobacterium halobium* ed *Halobacterium trapanicum* di Petter (12), *Halobacterium cutirubrum* di Lochhead (13), *Halobacterium marismortui* di Elazari - Volcani (14), *Halobacterium australis*, *universalis*, *lloydii*, *innocens*, *lochhead* di Anderson (15), nonché *Halobacterium cutirubrum*, var. *thermophilum*, *Micrococcus Riccardi*, *Micrococcus morrhuae*, var. *lipolyticus*, *Micrococcus morrhuae*, var. *denitrolipolyticus*, *Halobacterium cutirubrum*, var. *proteolyticum*, *Halobacterium Simoncinii* e *Halobacterium Simoncinii*, var. *neapolitanum* di Formisano (2, 3).

Altri ancora potranno essere in seguito individuati e descritti: essi dovranno però, come sopra indicavamo, riprodurre, nelle prove di reinfezione su pelli sane, l'alterazione di « calore rosso ».

Nello studio, infatti, delle cause predisponenti e concomitanti all'insorgere e all'accentuarsi dell'alterazione, uno di noi [Formisano (2, 3)], da pelli bovine Packers americane, aventi in genere la seguente composizione chimica (tab. n. 1), ha isolato ben 236 ceppi microbici, riportati in definitiva ad 11

TABELLA N. 1

PELLI PACKERS AMERICANE										
Costituenti %	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Lotto 4	Lotto 5	Lotto 6	Lotto 7	Lotto 8	Lotto 9	Media
Umidità . . . . .	33,98	37,59	32,92	32,34	37,39	33,79	34,34	37,34	38,78	35,386
Sostanza dermica . . . . .	31,92	29,35	33,02	31,50	32,19	34,06	33,63	32,10	31,87	32,182
Sostanze grasse . . . . .	13,99	12,90	10,07	13,69	6,07	7,37	8,47	6,93	7,89	9,709
Ceneri . . . . .	13,19	14,97	18,32	15,48	17,48	18,32	15,43	14,81	12,79	15,643
Pelo . . . . .	4,12	3,95	4,32	4,75	4,50	4,41	5,01	4,80	4,92	4,531
Sostanze indeterminate (per differenza) . . . . .	2,80	1,24	1,35	2,24	2,37	2,05	3,12	4,02	3,75	2,549
NaCl . . . . .	12,61	13,91	16,21	14,12	15,28	15,33	13,67	12,14	10,93	13,81

  

PELLI BOVINE NOSTRANE										
Costituenti %	Groppone			Collo con testa			Fianchi			Media generale
	Collo	Testa	Spalla	Collo	Testa	Spalla	Collo	Testa	Spalla	
Umidità . . . . .	45,08	43,39	44,85	48,13	46,58	45,66	44,70	45,60	44,70	45,332
Sostanza dermica . . . . .	32,0	33,55	32,50	28,45	29,40	26,06	25,15	24,48	25,15	29,071
Sostanze grasse . . . . .	0,66	0,60	0,69	0,71	0,78	1,05	1,15	0,95	1,15	0,819
Ceneri . . . . .	15,61	14,91	14,19	15,54	14,10	16,50	15,86	16,68	15,86	15,306
Pelo . . . . .	1,80	2,08	1,88	1,64	1,65	4,01	3,95	4,05	3,95	2,557
Sostanze indeterminate (per differenza) . . . . .	4,45	5,47	5,89	5,53	7,49	6,72	9,19	8,24	9,19	6,915
NaCl . . . . .	15,16	14,49	13,68	15,09	13,98	16,10	15,20	16,20	15,20	14,84

Nota: I lotti delle pelli Packers erano costituiti, ognuno, di tre gropponi grezzi.  
 Le pelli bovine nostrane, derivanti da vacche mezzine, furono salate col 25% di NaCl. Le analisi furono effettuate dopo 3 mesi dalla salagione.

specie e loro varietà i cui caratteri morfo-fisiologici, colturali e biochimici e la relativa posizione sistematica sono riuniti nella tabella n. 2.

Dai dati riassunti in tabella 1 appaiono evidenti i seguenti fatti :

1) La percentuale di umidità delle pelli Packers è risultata sempre inferiore a quella delle pelli bovine nostrane, ciò però — riteniamo — non costituisce un fattore da tenere in gran conto in quanto le analisi sono state effettuate su pelli Packers fortemente salate con NaCl (in genere, intorno al 40% di sale in rapporto al peso-pelle), mentre le pelli bovine nostrane erano state salate col 25% di NaCl (salatura in vasca e fuori vasca e, dopo 6 giorni, piegatura della pelle e sistemazione in tina).

2) Per quanto riguarda le percentuali di sostanza dermica, profonde differenze non esistono (le pelli Packers ne hanno in media il 32,182% rispetto alle pelli nostrane che ne posseggono in media il 29,071%), mentre invece la differenziazione è marcata ed evidente per quanto concerne le sostanze grasse. Le pelli bovine Packers infatti posseggono una quantità di grasso circa 10 volte superiore alle pelli bovine nostrane. Dai campioni analizzati, infatti, il contenuto medio in sostanze grasse delle pelli Packers è risultato del 9,709% con un minimo del 6,07% ed un massimo del 13,99%; mentre per le pelli nostrane si è avuto, rispettivamente: 0,819% (media), 0,60 (minimo), 1,15 (massimo).

Per quanto riguarda poi i germi isolati e descritti [Formisano (3)] come causa dello insorgere del « calore rosso » sulle pelli bovine salate, i risultati riuniti nella tabella n. 2 mostrano che trattasi di Schizomiceti, per la maggior parte alofili obbligati, cromogeni, appartenenti alla famiglia delle *Pseudomonadaceae* o a quella delle *Micrococcaceae*.

I caratteri morfo-fisiologici, colturali, biochimici, ecc. dei germi isolati, nonché i risultati delle prove di reinfezione effettuate su pelli salate fresche e sane hanno fatto già concludere che il « calore rosso » è di origine microbica e che i germi responsabili non appartengono ad una sola specie, bensì ad una vasta microflora specifica.

\*  
\*\*

Proseguendo nelle indagini, si intende dar conto, con la presente nota, dei risultati ottenuti prendendo in considerazione i seguenti fatti :

1°) Sostituzione del NaCl dal mezzo di coltura con altra sostanza isotonica rispetto alla concentrazione del 27,5% di NaCl, ritenuta idonea a consentire il miglior sviluppo dei ceppi isolati ;

2°) studio dell'influenza di alcune sostanze ad azione oligodinamica sulla crescita dei ceppi ;

3°) accertamento del modo con cui gli agenti microbici responsabili del « calore rosso » penetrano attraverso gli strati della pelle e ne attaccano i componenti ed in quali condizioni prosperano o restano latenti nel tessuto dermico.

\*  
\*\*

Il cloruro sodico è senza dubbio il conservativo chimico più largamente adoperato per le pelli e la sua azione batteriostatica ovvero battericida è dovuta ad un complesso di effetti concomitanti tra i quali predominano :

- a) l'azione osmotica e la conseguente disidratazione ;
- b) l'effetto della tossicità ionica ;
- c) la relativa impenetrabilità dell'ossigeno in salamoie molto concentrate ;
- d) la diminuzione dell'attività degli enzimi proteolitici.

Ma dipende, inoltre, la predetta attività conservatrice del NaCl anche dalla sua concentrazione, dalla sua velocità di penetrazione, dal grado di contaminazione da parte di germi alotolleranti od alofili obbligati, dalle temperature di conservazione delle pelli, ecc.

Noi pertanto, tenendo conto di quanto or ora detto, abbiamo voluto ricercare in vitro quali effetti si verificano se il NaCl nel mezzo di coltura per i germi, viene sostituito da altri composti. E perciò, la sostituzione del NaCl con altra sostanza isotonica ha mirato innanzitutto a chiarire se il NaCl fosse un necessario fattore di crescita dei germi alofili isolati e descritti, ovvero avesse altro ufficio: rappresentasse, ad esempio, soltanto un regolatore della pressione osmotica cellulare o della tensione superficiale del mezzo.

E ciò in quanto nelle precedenti ricerche [Formisano (2, 3)] era stato osservato che la quantità di NaCl aggiunta al mezzo di coltura rimaneva tale anche dopo un periodo di tempo molto prolungato (fino a 50 giorni) di permanenza dei ceppi nello stesso substrato, nè d'altro canto, risultava una perdita o un aumento di NaCl, in seguito alla coltivazione, nelle ceneri delle cellule microbiche.

Conseguentemente, l'indagine tenta ora di stabilire se esistono e quali sono gli effetti della tossicità ionica sulla membrana cellulare in seguito alla predetta sostituzione ed ancora quali sono gli effetti fisici degli ioni sul metabolismo e sulla fisiologia dei germi alofili ed in particolare se questa tossicità,

qualora esiste, è legata all'ione-cloro o all'ione-sodio, oppure alla molecola indissociata di NaCl.

Nello stesso tempo si tenta di chiarire se la sostituzione del NaCl qualora abbia effetto positivo sulla crescita dei nostri alofili determini o meno l'apigmentazione dei germi descritti.

D'altro canto si ritiene di estendere le indagini al fine di ottenere conferma, oppur non, che la trasformazione del pigmento microbico in leucoprodotto (ripetendo il contatto con solventi organici), si verifichi allo stesso modo di come è stato già ottenuto da uno di noi [Formisano (3)].

Lo studio della influenza, sulla crescita dei ceppi, di talune sostanze ad azione oligodinamica ha avuto lo scopo di stabilire se dette sostanze costituiscono o meno fattore indispensabile o concomitante all'insorgere del danno.

L'accertamento, poi, del modo di penetrare dei germi descritti attraverso gli strati della pelle e della maniera di attaccare i componenti della pelle stessa, nonché di stabilire in quali condizioni i predetti germi prosperano o restano latenti nel tessuto dermico, vuole chiarire se il danno di « calore rosso » interessa effettivamente soltanto lo strato superficiale del « lato carne » (e pertanto può essere facilmente rimosso), ovvero determini alterazioni più o meno profonde fino al « lato fiore ».

Tanto è necessario accertare al fine di orientare la scelta di mezzi o metodi capaci di ridurre o eliminare il danno, nel senso cioè di facilitare la ricerca di prodotti o tecniche che agiscano superficialmente ovvero debbano esplicare la loro efficacia penetrando nel tessuto dermico.

E perciò, per la esecuzione di tutte le indagini, come fin qui è stato riferito, abbiamo operato nel modo seguente :

#### *Materiali e Tecniche.*

Il NaCl alla concentrazione ottimale del 27,5% è stato sostituito dai seguenti composti :  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ;  $\text{KCl}$ ;  $\text{NaNO}_3$ ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  e  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ .

In tal modo si è tenuto conto, nella sostituzione, di impiegare composti che, indipendentemente tra loro e volta a volta, possedessero l'ione Na o l'ione Cl, ovvero non possedessero alcuno dei predetti.

L'isotonia (rispetto alla concentrazione del 27,54% di NaCl) è stata raggiunta impiegando lo  $\text{NH}_4\text{Cl}$  al 24,7%; il  $\text{KCl}$  al 34,09%; il  $\text{NaNO}_3$  al 39,4%; il  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  al 32,74%; lo  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  al 28,9%; il  $\text{KNO}_3$  al 46,61%; il Na-citrato al 45,2% e il Na-acetato al 63,2%.

Si è saggiata pure l'influenza di alcuni miscugli di sali, in presenza di NaCl.

Sono state effettuate determinazioni al colorimetrico Lange mod. J (filtro 590 m $\mu$ ), coltivando i germi in un substrato liquido di base, costituito da: Estratto di carne Liebig, g. 10; Peptone Costantino, g. 10; acqua distillata, q. b. a 1.000 cc e sono state stabilite le relative curve di crescita.

Contemporaneamente, sono stati pure impiegati i predetti substrati, solidificati all'agar, o fatti assorbire dal silico-gel.

Le prove di trasformazione dei pigmenti batterici in leucoprodotto sono state condotte impiegando agar pappa di patata sec. Formisano (3) e con i seguenti solventi: alcool etilico, alcool metilico, etere etilico, ed effettuando determinazioni spettrofotometriche.

L'influenza delle sostanze ad azione oligodinamica sui ceppi è stata ricercata aggiungendo al substrato di base i seguenti composti: carbonato di cerio, pentossido di vanadio, ossido di torio, carbonato di berillio, triossido di antimonio, solfato di tallio, nitrato di stronzio, nitrato di cadmio, carbonato di litio, in ragione di 50 p.p.m.

L'accertamento del modo di penetrare dei germi descritti attraverso gli strati della pelle è stato realizzato con indagini istologiche e, pertanto, si sono utilizzati:

- a) per una colorazione di ordine generale, l'ematosilina-eosina (16);
- b) per il connettivo, il metodo di Van Gieson (16);
- c) per le fibre elastiche, il metodo di Weighert (16);
- d) per il grasso, il metodo al Sudan III (16);
- e) per la ricerca dei germi nei tessuti, i metodi al bleu di Löffler e al bleu di toluidina-eosina (17).

Il materiale in esame (costituito da sezioni di pelle ottenute al microtomo congelatore di Spencer della American Optical Company) era rappresentato da pelli Packers americane indenni e infettate coi germi precedentemente descritti.

I tagli sono stati eseguiti a determinati intervalli di tempo e sono stati effettuati, per confronto, anche su pelli bovine italiane.

Questo materiale veniva preliminarmente fissato con formalina salata di Policard (acqua 900, formalina al 40%, 100, cloruro sodico 9), che ci è sembrata la più adatta a svolgere un effetto rapido senza produrre alcun danno alle strutture dei tessuti, rispettando, nel contempo, i particolari istologicamente interessanti.

Le modalità di esecuzione sono state le seguenti:

Pezzi di pelle (cm 1  $\times$  1) venivano posti in formalina salata di Policard, per 5 giorni. Dopo un rapido lavaggio in soluzione fisiologica si è proceduto

al taglio al microtomo congelatore; le fettine ottenute sono state poste in soluzione fisiologica e quindi in albumina glicerinata diluita 1 : 4. Dopo trasporto su vetrino e dopo cauto e parziale asciugamento con carta bibula, nonchè rapido passaggio alla fiamma, si è proceduto all'ulteriore fissazione al vetrino con alcool a 70°, sfruttando la proprietà di questo di coagulare la albumina. Indi sono state eseguite le colorazioni specifiche :

a) la colorazione all'ematossilina-eosina è stata realizzata ponendo il preparato, in emallume acido di Mayer (°) (rispetto ad altre ematossiline questo presenta il vantaggio di non alterarsi e di non sovracolorarsi) per un periodo di tempo variabile da 10 a 20 minuti, a seconda del grado di colorazione raggiunto col controllo microscopico.

Dopo avere sciacquato il preparato in acqua distillata e dopo permanenza in acqua di condotta per alcuni minuti si è colorato con soluzione acquosa all'1% di eosina per mezzo minuto.

Si sono passati i preparati nella serie degli alcoli ; si sono rischiarati in xilolo e si sono montati in balsamo.

b) La colorazione di Van Gieson è stata effettuata nel modo seguente :

il preparato è stato posto in emateina alluminosa (°°) allo scopo di realizzare la doppia colorazione, da 10 a 20 minuti ; dopo essere stato lavato in acqua distillata e dopo passaggio in acqua di condotta, è stato colorato con il liquido di Van Gieson (soluzione acquosa di fucsina acida all'1% p. 1, soluzione acquosa saturo di acido picrico p. 7, acqua distillata p. 8) per due minuti, indi è seguito il lavaggio in acqua distillata, il passaggio nella serie di alcoli, in xilolo, in balsamo.

c) Per la colorazione di Weighert si sono impiegati i preparati provenienti dall'alcool a 95° e sono stati posti nella soluzione di resorcina-fucsina

---

(°) Si scioglie 1 g di ematossilina in 1 litro di acqua distillata, poi si aggiungono g 50 di allume e g 0,2 di iodato di sodio. Quando i sali sono tutti disciolti si aggiungono g 50 di cloralio idrato e g 1 di acido citrico [Beccari (16)].

(°°) Emateina g 0,15; allume potassico g 5; acqua distillata cc 100. Si scioglie a caldo l'allume potassico nell'acqua e, dopo che la soluzione si è alquanto raffreddata, vi si versa l'emateina finemente pestata. Quando il liquido si è completamente raffreddato si aggiungono cc 10 di alcool etilico a 95° e un pezzetto di canfora o un cristallo di timolo [Beccari (16)].

di Weighert (°) per 30 minuti. Il differenziamento avveniva in alcool a 95° ovvero in alcool a 95° acidulato al 0,50% con acido cloridrico nel caso di insufficiente scolorazione del fondo. Faceva seguito il passaggio in alcool assoluto, xilolo e quindi montaggio in balsamo.

d) La colorazione al bleu di Löffler è stata così realizzata :

Il preparato è stato posto nella soluzione di bleu di Löffler (soluzione alcoolica concentrata di bleu di metilene cc 30, lisciva di potassa al 0,001% cc. 100) per 10 minuti. E' seguito il lavaggio in acqua distillata e la differenziazione in acqua acidulata al 0,50% di acido acetico per 30 secondi. Indi è stato effettuato un passaggio negli alcoli, quindi in xilolo e montaggio in balsamo.

e) Per la colorazione al bleu di toluidina-eosina, il preparato è stato posto in soluzione fenicata di bleu di toluidina (g 1,5 di bleu di toluidina in acqua fenicata all'1%) per 2 minuti. Quindi è seguita la differenziazione in acido acetico all'1%, nonchè il lavaggio in acqua e colorazione di contrasto con eosina. Infine è stato effettuato il normale passaggio nella serie degli alcoli, in xilolo e montaggio in balsamo.

f) La colorazione al Sudan III è stata così realizzata :

Il preparato proveniente dall'alcool a 50° è stato posto in soluzione di Sudan III (°°) per 20 minuti. Dopo aver sciacquato rapidamente con alcool a 50° il preparato è stato passato in acqua distillata, quindi si è eseguito il montaggio in gomma-sciroppo.

Le indagini istologiche sono state effettuate su pelli Packers americane all'arrivo (e pertanto è da presumere che fosse intercorso un periodo medio di 2-4 mesi dalla loro raccolta e salatura); quindi sulle stesse pelli tenute in frigorifero alla temperatura di + 5°C, ad intervalli regolari fino ad un massimo di 6 mesi dal loro arrivo.

Le stesse indagini, per confronto sono state effettuate su pelli nostrane

---

(°) Acqua distillata cc 200, fucsina basica g 2; resorcina g 4. Si fa bollire il tutto per 5'. Si sospende l'ebollizione, si aggiungono 25 cc di soluzione officinale di percloruro di ferro (29% in acqua distillata) e si torna a far bollire per qualche minuto. Si lascia raffreddare, si filtra, si elimina il filtrato, mentre il precipitato viene sciolto a caldo in 200 cc di alcool a 95°, mettendo nel recipiente filtro e precipitato. Quando la soluzione si è raffreddata si aggiungono 4 cc di acido cloridrico [Beccari (16)].

(°°) Si scioglie in alcool a 70° un eccesso di Sudan III ovvero di Scarlatto R e, per favorire la saturazione, si lascia a lungo in termostato [Beccari (16)].

da noi infettate, a cominciare però sin dal momento della mattazione degli animali e poi periodicamente e parallelamente alle indagini effettuate sulle Packers.

In tal modo si è lavorato su materiale sufficientemente omogeneo per poter essere sottoposto ad utili confronti e per consentire di trarre conclusioni concrete.

Questi risultati, come quelli di tutte le prove indicate nella presente nota, vengono qui di seguito raggruppati e discussi.

### *Risultati.*

Nella tabella n. 3 abbiamo riunito i dati riguardanti la crescita dei nostri agenti del « calore rosso », sostituendo, nel mezzo di coltura, il NaCl con altri sali.

Lo sviluppo è stato eseguito in substrato liquido; nella tabella n. 4, però, diamo anche i risultati ottenuti allevando i germi su substrato solidificato con l'agar o fatto adsorbire dal silico-gel.

Dai risultati riportati nelle tabelle predette appare chiaro che abbiamo impiegato composti che, volta a volta, contengono il catione  $\text{Na}^+$  o l'anione  $\text{Cl}^-$ , ovvero non contengono alcuno dei predetti.

La isotonia è stata rispettata sostituendo il NaCl con altro sale ad equivalente concentrazione.

Le letture, eseguite spettrofotometricamente al 12° giorno di termostato alla temperatura optimum per le singole specie alofile in esame, hanno messo in evidenza due fatti fondamentali, e cioè :

1°) il NaCl può essere sostituito, elettivamente, dal solo  $\text{NaNO}_3$  (tra i sali presi in esame) e peraltro dal  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  meno elettivamente, senza che venga alterata la curva di crescita dei germi ;

2°) gli altri cloruri saggiati ( $\text{KCl}$  e  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) non permettono lo sviluppo; così gli altri sali ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), impiegati in sostituzione del NaCl, sono egualmente tossici.

Basterebbero pertanto già queste sole risultanze a far constatare che non soltanto la pressione osmotica influenza l'azione del sale ma che entrano in gioco anche azioni specifiche degli ioni sulla crescita dei nostri alofili.

In particolare, esaminando l'influenza dell'ione  $\text{Cl}^-$  legato sia in sali che consentono la crescita e sia in sali inibitori, si può dedurre l'assenza per esso di un effetto specifico. Per quanto riguarda, invece, l'ione  $\text{Na}^+$  dobbiamo dedurre che esso esercita effetto positivo sulla crescita dei germi, però, aggiungiamo subito che ciò non può essere generalizzato, considerando ad



TABELLA N. 4

Tempo	Ceppo	con agar				con silico-gel			
		NaCl 27,5%	KCl 34,09%	NaNO <sub>3</sub> 39,4%	KNO <sub>3</sub> 46,61%	NH <sub>4</sub> Cl 24,7%	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> 28,9%	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 32,74%	Na-citrato 45,2%
dopo 12 giorni	13	++	-	+	-	-	-	-	-
	14	++	-	+	-	-	-	+	-
	17	++	-	+	-	-	-	-	-
	81	++	-	+	-	-	-	-	-
	82	++	-	+	-	-	-	-	-
	105	++	-	+	-	-	-	+	-
	136	++	-	+	-	-	-	-	-
	150	++	-	+	+	-	-	-	-
	157	++	-	+	-	-	-	-	-
	185	++	-	+	-	-	-	-	-
	202	++	-	+	-	-	-	-	-

esempio, che gli ioni  $\text{Na}^+$  in sali organici (pure da noi adoperati), come citrato sodico ed acetato sodico non hanno consentito la crescita dei germi.

D'altro canto la sperimentazione non è stata ulteriormente estesa ai sali organici in quanto abbiamo ritenuto soffermarci su quelli inorganici nel cui gruppo rientra il  $\text{NaCl}$  che viene usato nelle più abituali condizioni di salatura.

Pertanto è da ritenere che il  $\text{NaCl}$ , fermo restando che non può essere considerato una sostanza nutritiva per i batteri, esplica sullo sviluppo dei nostri microrganismi alofili un'azione che non deve essere attribuita però soltanto all'equilibrio della pressione osmotica del mezzo ma anche ad una azione specifica degli ioni.

Passando ora a considerare l'efficacia o meno di determinate sostanze ad azione oligodinamica sui germi alofili in studio, innanzitutto riuniamo nelle tabelle che seguono (n. 5 e n. 6) i risultati della crescita nel tempo impiegando diversi composti alla concentrazione di 50 p.p.m. e, in più, i valori percentuali, determinati spettrofotometricamente, rispetto alla prova controllo.

Si evince subito dai risultati ottenuti che in linea generale quasi tutte le sostanze saggiate non manifestano alcuna azione positiva sulla crescita dei nostri alofili, anzi il più delle volte esercitano azione talora anche marcatamente negativa, nel senso che ne attenuano lo sviluppo ed il relativo metabolismo, ad eccezione del triossido di antimonio e del solfato di tallio per la nostra varietà *thermophilum* n. var. dell' *Halobacterium cutirubrum* (Lochh.) Elazari-Volcani; dello stesso solfato di tallio per la nostra specie nuova denominata *Micrococcus Riccardi* Formisano ed ancora del carbonato di cerio per la nostra specie nuova denominata *Halobacterium Simoncini* Formisano; dell'ossido di torio e del carbonato di litio per l' *Halobacterium cutirubrum* Lochh.; del nitrato di stronzio, del carbonato di litio e del solfato di tallio per la nostra varietà *lipolyticus* n. var. del *Micrococcus morrhuae* Klebahn.

Questa influenza delle sostanze testate menzionate sulla crescita di taluni dei nostri alofili è solo però limitatamente positiva in quanto non supera l'11,6% in più rispetto alle prove-controllo allestite in assenza di dette sostanze.

Pertanto è da ritenere che la presenza dei microelementi nella costituzione chimica delle pelli bovine ha ben'altro ufficio che comunque non sembra in alcun modo legato all'impiantarsi e allo svilupparsi degli agenti microbici del « calore rosso ».

Per quanto riguarda infine, il modo di installarsi, di rimanere latenti o di penetrare nel tessuto dermico dei germi alofili cromogeni responsabili della colorazione rossa, nelle figure che seguono riportiamo alcuni dati più significativi.

Stando al complesso di indagini istologiche effettuate sulle pelli Packers

TABELLA N. 5

Ceppi	Lettura: I = al tempo 0 II = al 6° giorno III = al 12° giorno	Controllo	C o m p o s t i								
			Carbonato di cerio oso	Pentossido di vanadio	Ossido di torio	Carbonato di berillio	Triossido di antimonio	Solfato di tallio	Nitrato di stronzio	Nitrato di cadmio	Carbonato di litio
N. 13	I	33,2	35,0	36,6	37,0	37,2	31,7	33,5	33,5	37,9	37,6
	II	45,2	52,9	48,2	49,2	51,7	52,8	52,0	56,0	52,5	67,5
	III	77,9	72,8	53,5	75,5	69,5	69,0	79,2	75,2	78,5	85,0
N. 14	I	33,0	35,8	37,1	37,7	37,8	32,5	30,6	33,0	36,5	38,0
	II	40,1	57,0	49,5	47,2	45,5	49,9	59,5	48,0	44,8	66,9
	III	73,5	76,2	54,5	74,5	75,5	75,7	76,0	73,5	73,0	76,5
N. 17	I	32,9	35,1	42,2	35,0	33,0	31,1	32,2	31,8	35,5	55,9
	II	52,0	52,5	39,5	49,9	35,5	29,6	41,0	38,5	46,0	47,0
	III	74,5	71,5	53,9	72,0	41,0	34,5	45,0	45,8	70,2	77,1
N. 81	I	32,7	35,6	42,2	34,5	33,2	32,5	30,0	32,0	35,8	37,5
	II	50,8	61,5	42,0	56,0	47,5	26,0	47,5	50,5	48,9	57,0
	III	75,0	69,8	53,5	75,1	64,0	32,2	74,0	72,1	56,5	78,5
N. 82	I	32,5	35,0	42,5	34,1	32,5	30,5	31,0	35,0	35,8	36,1
	II	42,5	54,0	38,5	47,9	45,0	34,0	37,0	42,0	45,0	59,2
	III	69,8	74,5	63,1	80,0	70,0	40,0	55,5	64,0	53,8	80,0
N. 105	I	33,0	35,5	42,0	35,0	30,0	31,0	31,2	34,8	35,1	35,2
	II	52,5	64,5	41,5	55,2	33,1	29,8	45,0	49,5	47,5	51,0
	III	74,0	79,8	83,5	75,5	59,9	46,5	79,5	79,5	60,5	83,0
N. 136	I	32,9	36,0	42,5	35,0	31,0	31,0	30,5	35,5	35,0	36,9
	II	49,5	74,5	38,0	65,0	36,0	34,5	54,5	66,0	31,2	58,0
	III	75,1	76,0	57,5	75,1	48,0	37,2	62,5	65,5	42,5	74,5
N. 150	I	32,5	30,0	43,5	35,8	28,5	29,2	29,0	43,1	36,2	35,5
	II	48,5	41,0	41,2	40,8	37,5	44,0	35,8	45,5	42,0	40,1
	III	85,0	50,2	52,0	46,5	46,5	50,0	43,5	53,5	47,0	47,5
N. 157	I	33,0	28,9	39,0	35,5	30,0	28,5	29,0	39,9	37,5	36,2
	II	64,1	42,5	37,0	42,9	37,5	33,5	39,5	42,2	39,2	40,0
	III	83,9	63,8	44,0	48,9	52,5	38,2	56,5	53,2	45,5	50,5
N. 185	I	32,5	29,0	39,5	36,2	29,2	29,2	29,5	43,0	36,5	33,8
	II	46,5	41,0	41,5	41,1	37,0	40,5	36,2	46,5	39,1	38,5
	III	64,2	60,5	57,0	57,8	53,5	56,0	52,2	62,1	44,5	60,5
N. 202	I	33,0	30,2	43,5	34,0	29,5	30,5	28,8	42,5	34,8	37,5
	II	50,2	40,5	42,2	41,5	35,8	40,5	36,5	46,0	40,5	39,1
	III	78,9	50,5	58,0	54,5	48,0	42,5	43,5	57,0	46,2	46,1

TABELLA N. 6

Ceppi	Controllo	Carbonato di cerio %	Pentossido di vanadio %	Ossido di torio %	Carbonato di berillio %	Triossido di antimonio %	Solfato di tallio %	Nitrato di stronzio %	Nitrato di cadmio %	Carbonato di litio %
N. 13	100	88,7	62,3	87,0	79,6	92,8	100,8	95,7	88,3	96,3
N. 14	»	95,6	65,9	88,7	89,7	104,6	111,4	100,0	89,8	90,4
N. 17	»	90,0	56,4	90,7	54,9	49,0	61,7	63,6	87,3	94,8
N. 81	»	85,5	55,3	95,0	84,0	—	107,4	98,2	68,9	91,3
N. 82	»	99,1	69,1	109,1	100,1	61,0	83,4	85,2	66,5	103,3
N. 105	»	100,2	88,7	96,2	89,0	66,9	111,6	101,9	76,9	105,2
N. 136	»	92,4	59,3	94,0	67,8	52,6	89,8	80,8	53,2	88,5
N. 150	»	64,0	45,8	49,8	62,5	65,6	57,4	47,5	49,8	51,2
N. 157	»	86,8	59,6	54,2	60,9	52,7	76,6	52,4	47,7	54,9
N. 185	»	105,6	69,3	83,1	92,7	97,0	89,6	73,1	61,7	90,6
N. 202	»	69,9	55,7	67,0	68,0	58,3	63,2	56,1	55,5	51,4

Nota: L'incremento percentuale dello sviluppo dei nostri alofili in seguito all'aggiunta al substrato di base dei composti oligodinamici è stato ottenuto facendo uguale a 100 il risultato della prova in bianco (controllo).

e, per confronto, sulle pelli bovine nostrane, dobbiamo ritenere che le nostre specie alofile pure essendo esse gli agenti specifici del « calore rosso » (sono sempre risultate positive le prove di reinfezione su pelli sane e salate) si installano sul « lato carne » delle pelli stesse in quanto provengono dal sale o dal terreno o dall'aria (comunque dall'ambiente esterno) e sullo *strato superficiale* di detta zona permangono adempiendo a tutte le loro attività metaboliche. Non si approfondiscono affatto nei tessuti della pelle (v. fig. 4, 9 e 10) e, se talora da altri è stata constatata una penetrazione in tal senso è da supporre che solo fattori meccanici (lesioni, screpolature, ammaccature ecc.) abbiano favorita detta penetrazione. Così pure il danno talora evidenziato sul « lato fiore », anche se in corrispondenza dell'attacco del « calore rosso » sulla contrapposta zona del « lato carne », è da ritenersi soltanto casuale e perciò aspecifico.

Infatti, dall'esame comparato delle osservazioni microscopiche eseguite sui preparati istologici allestiti col metodo di Weighert e, relativamente a tutti i ceppi infettanti, si può dedurre che, per quanto riguarda le fibre elastiche della zona papillare del derma (lato fiore) non sono rilevabili significative alterazioni (fig. 7). Solo per le fibre elastiche degli strati più profondi (fig. 8) si riscontrano alcune alterazioni riguardo al numero, alla forma e al decorso delle fibre stesse.

Tali modificazioni possono essere messe in relazione con le alterazioni morfologiche di tutta la regione marginale (v. fig. 2 e 3) ipodermica, alterazioni che derivano da un certo disordine della configurazione della zona rispetto alla normale isto-architettura dei costituenti fibrillari del derma. Ciò, certamente è conseguenza di un'azione disorganizzatrice, seppure modica, esercitata sul margine superiore del corion in seguito alla infezione provocata dagli agenti microbici del « calore rosso ».

D'altro canto, però, riteniamo che debba escludersi una vera e propria attività elastica da parte dei germi predetti.

Per quanto riguarda poi i risultati ottenuti in seguito alla colorazione all'ematossilina-eosina (fig. 1) è stato notato che le condizioni generali del tessuto si presentano quasi sempre conformi alla norma; ed il raggrinzimento (contrazione), talora osservato, dei fasci di fibre, supponiamo debba rapportarsi allo stato delle pelli sottoposte al processo di salatura: pertanto si tratterebbe di una manifestazione conseguente ad una pura causa fisico-chimica, e perciò non imputabile alla partecipazione dei germi del « calore rosso ».

La colorazione al Sudan III ha messo in evidenza la particolare ricchezza in grasso del tessuto (che poi è una peculiare caratteristica delle pelli bovine Packers).

Infatti sono chiaramente visibili le cospicue localizzazioni lipidiche sia



in sede follicolare intorno alle ghiandole sebacee (ove particolarmente alta è la concentrazione), sia sotto forma di infiltrati e di depositi irregolari negli interspazi delle fibre collageniche del corion (fig. 6), oltrechè al limite del tessuto connettivo sottocutaneo (fig. 5).

Queste irregolarità non possono, però, avere il significato di specifica alterazione in quanto sono riscontrabili in tutte le pelli bovine ed in particolare in quelle più ricche in sostanze lipidiche.

Per quanto concerne i risultati della colorazione al bleu di toluidina-eosina, praticata per mettere in evidenza la presenza delle forme microbiche del « calore rosso » nei diversi strati dei tessuti, abbiamo osservato che i germi suddetti si localizzano nella zona marginale ipodermica (evidenti sono risultati gli ammassi delle forme cocciche, come in fig. 9 e 10, ma anche delle forme batteriche), e, a partire da questa zona, non si sono riscontrati approfondimenti dei germi.

Se qualche forma microbica è stata rinvenuta in zone più alte verso il lato fiore, si tratta certamente di localizzazione inerente alla manualità di tecnica e, pertanto, ad un trasporto puramente meccanico e non già ad un processo di penetrazione dei germi in profondità.

Analoghe risultanze si sono ottenute con le osservazioni dei preparati allestiti con la colorazione di Löffler.

Applicando, infine, il metodo di Van Gieson, si è ottenuto che per quanto riguarda le fibre collageniche non sono rilevabili significative alterazioni a carico di quelle, sia dello strato papillare sia dello strato reticolare.

Il loro aspetto è fascicolato con i caratteri della norma, tenendo bensì presente che ci si trova di fronte a tessuto che ha subito il processo di salatura e pertanto la isto-architettura risente di tale azione (che è essenzialmente disidratante), e che si appalesa con una modica riduzione del rapporto di intima contiguità tra fibra e fibra (v. fig. 2 e 3).

Lo strato fascicolare profondo (ipoderma) appare meno normale; relativamente ad esso si può dire quanto già espresso per gli altri metodi di colorazione e cioè che la fascia marginale è apparsa disordinata in conseguenza delle modificazioni indotte dalla localizzazione e dall'attività metabolica dei germi specifici del « calore rosso ».

I peli, infine, ben fissati nel loro involucro, appaiono normali e lo stesso involucro epiteliale risulta ben conservato (v. fig. 1, 2 e 5).

Tutto quanto abbiamo rilevato e riportato nella presente nota ci consente — riteniamo — di bene orientare la scelta di mezzi o tecniche per ovviare o impedire il danno, nel senso cioè che occorrerà ricercare i mezzi o le tecniche predette fra quelle che agiscono in superficie ed estrinsecano la loro azione per contatto.

### *Considerazioni e conclusioni.*

I dati sperimentali raccolti nella presente nota ci hanno permesso di approfondire maggiormente le conoscenze intorno al vasto e complesso problema delle cause predisponenti e concomitanti allo insorgere dell'alterazione nota come « calore rosso » delle pelli bovine salate.

Infatti, accertato che la causa è di origine microbica e studiato lo insieme dei caratteri della microflora specifica (2-3), si è indagato sul modo secondo cui i germi alofili cromogeni si impiantano, si approfondiscono e danneggiano la struttura fisica e la composizione chimica delle pelli.

In quanto allo impiantarsi della microflora specifica, va ricordato che è necessario che le pelli abbiano un giusto grado di umidità, un'adeguata reazione, una adeguata quantità di sale.

Questi fattori predisponenti non sono però i soli, perchè è necessario che esistano, ben s'intende, sul sale adoperato ovvero anche nell'aria ambiente o nel terreno ove gli animali vengono uccisi, i germi specifici.

L'alterazione, dopo i risultati ottenuti dalle indagini istologiche, pare che interessi soltanto la parte superficiale del « lato carne », senza che si verifichi cioè un approfondimento tale, verso il « lato fiore », che possa giustificare un eventuale presunto danno al pelo delle pelli stesse.

I germi trovano nella predetta zona superficiale del lato carne, tutte le sostanze di cui hanno bisogno per la loro crescita (proteine, lipidi, glucidi, sali minerali ed acqua); il tutto favorito o intensificato dalle condizioni-ambiente quali temperatura ed umidità ottimali. Non vi sarebbe pertanto una penetrazione, *sensu strictiori*, nei tessuti della pelle, ma sarebbe conseguenza dell'attacco dei germi tutta una serie di alterazioni fisico-chimiche nei costituenti della pelle ed in particolare di quelli che vengono a diretto contatto coi germi.

Infatti, conseguentemente alle indagini biochimiche eseguite sul metabolismo dei germi in vitro (3) e all'impiego delle metodiche particolari di colorazioni istologiche, potrebbe dedursi che, ad esempio, il grasso *in situ* può venire in parte trasformato per fenomeni di degradazione nel loro insieme, con la liberazione di acidi grassi e, con eventuale alterazione, anche profonda, della sua normale localizzazione sulla pelle stessa.

Tutto ciò indipendentemente dalla normale disposizione delle sostanze grasse intorno alle ghiandole sebacee e lungo il canale del pelo, nonchè nel corion, anche se le predette sostanze non sempre risultano regolarmente localizzate.

Il fatto poi che, come noi abbiamo trovato, i germi del « calore rosso » non passano attraverso gli strati della pelle ma si localizzano sulla super-

ficie del « lato carne », anche se non può fare escludere che protraendo il tempo di osservazione ciò possa verificarsi (noi ci siamo fermati al 180° giorno dall'infezione provocata), consente di ritenere che ciò possa spiegarsi col fatto che i germi trovano tutti gli elementi per la loro nutrizione già nella « sostanza basale » che esiste nelle pelli e che viene a contatto diretto dei germi.

Questa sostanza basale, pure essendo a tutt'oggi poco definita in quanto a struttura fisica ed a composizione chimica, metterebbe a disposizione degli agenti microbici del « calore rosso » le proprie proteine, i mucopolisaccaridi, i sali minerali, ecc.

Potrebbe, però, costituire alimento per i germi anche il « sebo » che normalmente fuoriesce, sul « lato fiore », dalle ghiandole sebacee.

Questa supposizione non sembri azzardata se si considera che le macchie rosse non sono localizzate in determinati punti, bensì appaiono eterogeneamente distribuite su tutta la superficie della pelle.

L'eliminazione del sebo è stata dimostrata che avviene naturalmente su pelli di animali in vita, ma siccome è stato ottenuto anche mediante spremitura (e ne sono stati stabiliti anche i costituenti chimici), si deve dedurre che in seguito alla compressione, all'impacchettamento, allo stivaggio nelle navi o al caricamento delle pelli sui veicoli di trasporto, o all'ammassamento in pile, possa spontaneamente fuoriuscire questo sebo e concorrere all'alimentazione dei germi.

Considerando poi che il corion caratterizza il cuoio finito (in quanto la epidermide e lo strato superficiale del fiore vengono eliminati), quando il « calore rosso » è allo stato iniziale di infezione, esso non arreca alcun disturbo al processo di concia e alle caratteristiche merceologiche del cuoio finito. Solo se il « calore rosso » interessasse *direttamente* il corion (cioè le fibre collageniche), allora ci sarebbe da temere un vero e proprio danno.

E pertanto, da ciò che finora abbiamo esposto, possiamo concludere con quanto segue :

1) Per quanto riguarda i dati istologici, nessuna alterazione profonda è rilevabile nell'intima struttura dei tessuti in seguito all'impiantarsi, sulle pelli bovine salate, del « calore rosso ».

2) Per quanto concerne l'accertamento se il NaCl è o meno fattore di crescita o costituisce sostanza alimentare per i germi alofili, (sia allo stato di coltivazione « in vitro », sia come sviluppo naturale sulle pelli), le prove istituite ed i risultati conseguiti, ci consentono di ritenere che si verifica una predisponente azione positiva (ai fini dello sviluppo microbico) da parte degli ioni  $\text{Na}^+$  e della molecola indissociata di NaCl.

Infatti, operando, in vitro e su pelle, la sostituzione del NaCl con altri

sali a concentrazioni tali da essere isotonici rispetto alla concentrazione del 27,5% di NaCl da noi adoperata normalmente, (ma anche senza essere isotonici) è da dire ad esempio, che il NaCl e il KCl [alla stessa concentrazione (10%) ed alla stessa temperatura (18°C) pur presentando gradi di dissociazione vicinissimi tra loro: rispettivamente 93,6 e 94,2] non possono essere sostituiti a vicenda e indifferentemente.

Al riguardo perciò dovrebbe supporre un'azione tossica dello ione  $K^+$  piuttosto che dello ione  $Cl^-$ , come taluni Autori avevano indicato e come noi avevamo presunto in precedenza.

E ciò viene dimostrato dal fatto che l'azione positiva sulla crescita degli alofili da parte del NaCl, si manifesta per la presenza dell'ione  $Na^+$  e per la molecola indissociata di NaCl.

3) Per quanto riguarda infine l'influenza di eventuali composti ad azione oligodinamica sui germi del « calore rosso » abbiamo constatato che, in linea generale, tutte le sostanze da noi saggiate sono senza azione specifica sul metabolismo dei germi stessi.

*Stazione Sperimentale per l'Industria delle Pelli  
e delle Materie Concianti. Napoli - Torino.*

Direttore: Prof. Dott. ENRICO SIMONCINI

*Istituto di Microbiologia agraria e tecnica del-  
l'Università degli Studi di Napoli.*

Direttore: Prof. Dott. SALVATORE RICCARDO

#### R i a s s u n t o

Dopo un biennio di indagini condotte per accertare le cause della comparsa del « calore rosso » sulle pelli salate è stato dimostrato che :

- 1°) L'alterazione è di origine microbica ed è dovuta a germi cromogeni, alofili obbligati.
- 2°) L'alterazione, che normalmente interessa soltanto la zona superficiale del « lato carne » delle pelli, non si estende agli strati sottostanti.

Il complesso delle indagini microbiologiche, chimico-fisiche ed istologiche, fin qui condotte, ci consente di orientare la scelta dei mezzi per ovviare all'insorgere del danno.

## R é s u m é

Après avoir conduit des recherches pour vérifier les causes de la parue du « rougissement » sur les peaux salées on a démontré que:

- 1°) L'alteration est d'origine microbienne et elle est liée aux germes chromogènes, halophiles obligés.
- 2°) L'alteration, qui normalement entérete seulement la surface du côté de la viande des peaux, ne s'étende pas à les couches inférieures.

Toutes les recherches microbiologiques, chimiques, phisiques et histologiques, jusqu' ici conduites, nous consentent de choisir des milieux pour empêcher le soulèvement du dommage.

## S u m m a r y

The investigations carried out for the last two years, in order to ascertain the causes of the « Red Heat » occurrence on salted hides have shown that:

- 1°) The alteration is of microbial origin and it is caused by chromogenic, halophylic obligated germs.
- 2°) The alteration, which usually concerns only the surface area of the flesh side, does not occur on the under layers.

The whole of the microbiological, chemico-physical and hystological investigations carried out up to now, permits to orientate the selection of means for preventing the occurrence of damage.

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Im Rahmen der Bestrebung, die gesalzene Rohhäute möglichst von « Rotwerdens » unbeschädigt zuzuführen und die Ursache der Ziegelrotflecken zu untersuchen, ist uns während zwei Jahren intensiver Arbeit gelungen folgendes zu beweisen:

- 1°) Die Veränderung hat zweifellos ein mikrobiologischen Ursprung; sie ist an chromogenen, zwangsalophilen Bakterien zurückzuführen.
- 2°) Die Veränderung findet gewöhnlich auf den Aussenschichten der Fleischseite statt und greift nie in den unteren Schichten ein.

Mit Hilfe aller bis heute erreichten Aufschlüsse im Rahmen mikrobiologischer, phisio-chemischen und istologischen Untersuchungen, sind wir nun im Stande zutrefflichen Mitteln zu wählen um den Vorkommen der Schade vollkommen zu überwinden.

## B I B L I O G R A F I A

- (1) BECKER H. : Die Salzflecken. *Collegium*, 1912, p. 411.
- (2) FORMISANO M. : Ricerche sul « calore rosso » delle pelli salate. Nota I. *Boll. Staz. Sperim. Industria Pelli e Materie Concianti*, vol. 38, n. 1, 1962, p. 3.
- (3) FORMISANO M. : Ricerche sul « calore rosso » delle pelli salate. II. Isolamento e caratterizzazione degli agenti microbici causanti l'alterazione. *Boll. Staz. Sperim. Industria Pelli e Materie Concianti*, vol. 38, nn. 2 e 3, p. 100 e p. 183.
- (4) STATHER F. : Untersuchungen über Salz flecken. *Collegium*, n. 703, 1928, p. 567.
- (5) STATHER F. : « Rote verfärbung » und « rote erhitzung » auf gesalzenen Rënten. *Collegium*, n. 720, 1930, p. 151.
- (6) BERGMANN M. : On the red discoloration of hides and on salt stains. *Journ. Intern. Soc. Leather Trades Chem.*, vol. 13, 1929, p. 599.
- (7) HAUSAM W. : Zur Bakteriologie des Rotwerdens von Salz häuten. *Collegium*, n. 729, 1931, p. 12.
- (8) HOROWITZ-WLASSOWA L. M. : Ueber die Rotfärbung gesalzener Därme (« der rote hund »). *Zentr. f. Bakt.*, II Abt., vol. 85, 1931, p. 12.
- (9) POULSEN V. A. : On Nogle Mikroskopiske Planteorganismer et Morfologisk og Kritisk studie. *Vidensk Meddel Dausk. Natur. Forening Kiobanhavn*, vol. 31-32, 1880, p. 231.
- (10) KLEBAHN H. : Die Sochädlinge des Klippfisches. Ein Beitrag zur Kenntnis der salzliebenden organismen. *Mitteil a. d. Inst. allgem. Botan. i. Hamburg*, vol. 4, 1919, p. 11.
- (11) HARRISON F. C., KENNEDY M. E. : The red discoloration of cured codfish. *Roy. Soc. Canada Proc. a. Trans.*, sez. 5, vol. 16, 1922, p. 101.
- (12) PETTER H. F. : On bacteria of salted fish. *Komintl. Akad. Wetenschap. Amsterdam*, vol. 34, 1931, p. 1417.
- (13) LOCHHEAD A. G. : Bacteriological studies on the red discoloration of salted hides. *Canad. Journ. Resear.*, vol. 10, 1934, p. 275.
- (14) ELAZARI-VOLCANI B. : Studies on the microflora of the Dead Sea. *Thesis Hebrew Univ. Jerusalem*, Israel, 1940.
- (15) ANDERSON H. : The reddening of salted hides and fish. *Appl. Microbiol.*, vol. 2, 1954, p. 64.
- (16) BECCARI N. : Elementi di tecnica microscopica. ed. Società Editrice Libreria, Milano, 1946.
- (17) MEDURI D., NOTARIO A. : Tecnica e diagnostica di laboratorio, ed. Abruzzini, Roma, 1960.